

Rec'd PCT/PTO 22 MAR 2003



REC'D 10 NOV 2003

WIPO

PCT

Prioritätsbescheinigung über die Einreichung einer Patentanmeldung

Aktenzeichen: 102 45 435.3

Anmeldetag: 27. September 2002

Anmelder/Inhaber: Micronas GmbH, Freiburg im Breisgau/DE;
BioChip Technologies GmbH, Freiburg im
Breisgau/DE.

Bezeichnung: Vorrichtung zur Detektion mindestens eines in einer
zu untersuchenden Probe enthaltenen Liganden

IPC: G 01 N, B 01 L

Die angehefteten Stücke sind eine richtige und genaue Wiedergabe der ursprünglichen Unterlagen dieser Patentanmeldung.

München, den 16. Oktober 2003
Deutsches Patent- und Markenamt
Der Präsident

Im Auftrag

Faust

**PRIORITY
DOCUMENT**

SUBMITTED OR TRANSMITTED IN
COMPLIANCE WITH RULE 17.1(a) OR (b)

Vorrichtung zur Detektion mindestens eines in einer zu untersuchenden Probe enthaltenen Liganden

Die Erfindung betrifft eine Vorrichtung zur Detektion mindestens eines in einer zu untersuchenden Probe enthaltenen Liganden, mit einem optischen Wellenleiter, an dessen Oberfläche wenigstens ein Rezeptor direkt oder indirekt immobilisiert ist, der beim Kontaktieren des Liganden eine spezifische Bindung mit dem Liganden eingeht, mit mindestens einer optischen Strahlungsquelle zur Einkoppelung von Anregungsstrahlung in den Wellenleiter, zur Anregung der Emission von Lumineszenzstrahlung in Abhängigkeit von der Bindung des Liganden an den Rezeptor, und mit einem Halbleiterchip, der wenigstens einen auf einem Halbleitersubstrat angeordneten Strahlungsempfänger zur Detektion der Lumineszenzstrahlung aufweist.

Eine derartige Vorrichtung ist aus DE 100 02 566 A1 bekannt. Sie weist an der Oberfläche eines planaren Licht-Wellenleiters mehrere Messstellen auf, an denen als Rezeptoren spezifische Nukleinsäuren immobilisiert sind. Mit den Rezeptoren wird eine zu untersuchende flüssige Probe in Kontakt gebracht, die zu den Rezeptoren komplementäre Nukleinsäuren enthält. Diese binden jeweils an die dazu passenden spezifischen Rezeptoren. Die so gebildeten, die zueinander komplementären Nukleinsäuren aufweisenden Rezeptor-Liganden-Komplexe werden mit einem Lumineszenzstoff markiert. Mit Hilfe z.B. einer Laserdiode wird eine Anregungsstrahlung erzeugt und in den Licht-Wellenleiter eingekoppelt. Durch Totalreflexion an der Grenzfläche des Wellenleiters wird in einer an die Grenzfläche angrenzenden Schicht der Probe ein elektromagnetisches Feld erzeugt, das sogenannte Evaneszenzfeld. Dieses dringt nur einige hundert Nanometer von der Grenzfläche in die flüssige Probe ein. Durch das Evaneszenzfeld werden nahezu ausschließlich die an der Oberfläche des Wellenleiters gebundenen Lumineszenzstoffe zur Abgabe von Lumineszenzstrahlung angeregt. Zum Nachweis der in der Probe enthaltenen Nukleinsäuren wird die Lumineszenzstrahlung mit Hilfe einer CCD-Kamera orts aufgelöst detektiert. Die CCD-Kamera ist an der den Rezeptoren abgewandten Rückseite des Wellenleiters angeordnet. Sie weist eine Abbildungsoptik auf, welche die einzelnen, an der Oberfläche des Wellenleiters befindlichen

Messstellen jeweils auf ein Detektorelement eines CCD-Sensors abbildet. Die Vorrichtung hat den Nachteil, dass sie noch relativ viele Systemkomponenten aufweist und daher entsprechend teuer ist. Ungünstig ist außerdem, dass die Vorrichtung vergleichsweise große Abmessungen aufweist. Schließlich ist auch die

5 Messempfindlichkeit der Vorrichtung noch verbesserungsfähig.

Es besteht deshalb die Aufgabe, eine Vorrichtung der eingangs genannten Art zu schaffen, die bei einem einfachen und kostengünstigen Aufbau eine kompakte Baugröße ermöglicht.

10

Die Lösung dieser Aufgabe besteht darin, dass der Wellenleiter monolithisch mit dem Halbleitersubstrat integriert ist oder als Wellenleiterschicht auf dem Halbleiterchip angeordnet ist.

15 Der mindestens eine Strahlungsempfänger ist dann direkt an der dem Rezeptor abgewandten Rückseite des Wellenleiters und somit in entsprechend geringem Abstand zu dem wenigstens einen Rezeptor angeordnet. Somit ergibt sich eine sehr kompakte und flache Vorrichtung, die beispielsweise die Form eines Plättchens aufweisen kann. Aufgrund des geringen Abstands zwischen dem Rezeptor

20 und dem Strahlungsempfänger kann eine aufwändige und teure Abbildungsoptik zwischen dem Rezeptor und dem Strahlungsempfänger eingespart werden. Die von einem an dem Rezeptor angelagerten Lumineszenzstoff emittierte Lumineszenzstrahlung kann in einem großen Raumwinkelsegment detektiert werden. Es ergibt sich also eine einfach aufgebaute, kostengünstig herstellbare Vorrichtung mit

25 großer Messempfindlichkeit. Unter Lumineszenz werden alle Emissionen von Strahlungsquanten verstanden, vor allem Leuchterscheinungen, wie Fluoreszenz oder Phosphoreszenz, die Stoffe nach quantenhafter Anregung zeigen.

Bei einer bevorzugten Ausführungsform der Erfindung erstreckt sich der Wellenleiter

30 bis über den wenigstens einen Strahlungsempfänger, wobei der wenigstens eine Rezeptor vorzugsweise dem Strahlungsempfänger direkt gegenüberliegend an der Oberfläche des Wellenleiters angeordnet ist. Die von einem an den Rezeptor gebundenen Liganden oder einem an diesem angeordneten Lumineszenzstoff ausgesandte Lumineszenzstrahlung verläuft dann etwa orthogonal zur Erstreckungsrichtung des Wellenleiters, wodurch eine gute Übertragung der Lumineszenzstrahlung durch den Wellenleiter hindurch in den Strahlungsempfänger

35

erreicht wird. Die Lumineszenzstrahlung wird also ohne Umwege direkt zu dem Strahlungsempfänger geleitet, wodurch eine hohe Detektionsempfindlichkeit der Vorrichtung ermöglicht wird.

- 5 Vorteilhaft ist, wenn die Wellenleiterschicht direkt an den Halbleiterchip angrenzt, und wenn die Topographie des Halbleiterchips in dem an den Wellenleiter angrenzenden Halbleiterchip-Bereich derart ausgebildet ist, dass die dem wenigstens einen Rezeptor gegenüberliegende Grenzfläche zwischen dem Halbleiterchip und dem Wellenleiter zwischen zwei parallel zur Erstreckungsebene des Halbleiterchips angeordneten Ebenen verläuft, deren Abstand kleiner ist als die Wellenlänge der Anregungsstrahlung, insbesondere kleiner als die Hälfte, vorzugsweise ein Viertel und gegebenenfalls ein Achtel der Wellenlänge der Anregungsstrahlung. Im Bereich des Wellenleiters ist also die Topographie des Halbleiterchips im Wesentlichen eben ausgebildet ist, was eine verlustarme Führung der Anregungsstrahlung in dem Wellenleiter ermöglicht. In entsprechender Weise kann auch die den Rezeptoren zugewandte Grenzfläche des Wellenleiters zwischen zwei parallel zur Erstreckungsebene des Halbleiterchips angeordneten Ebenen verlaufen, deren Abstand kleiner ist als die Wellenlänge der Anregungsstrahlung, insbesondere kleiner als die Hälfte, vorzugsweise ein Viertel und gegebenenfalls ein Achtel der Wellenlänge der Anregungsstrahlung. An der Grenzfläche zu dem Wellenleiter kann der Halbleiterchip eine Oxidschicht aufweisen.

- Bei einer vorteilhaften Ausführungsform der Erfindung ist zwischen dem Halbleiterchip und dem Wellenleiter eine Zwischenschicht angeordnet, deren optischer Brechungsindex kleiner ist als derjenige des Wellenleiters, wobei die Zwischenschicht an ihrer dem Halbleiterchip zugewandten und an diesem anliegenden Rückseite eine Negativform der Oberflächenstruktur des Halbleiterchips aufweist und wobei die die Grenzfläche zu dem Wellenleiter bildende Vorderseite der Zwischenschicht im Wesentlichen eben ausgebildet ist. Dabei ist es sogar möglich, dass sich der sich der Wellenleiter durchgängig oder unterbrechungsfrei über den wenigstens einen Strahlungsempfänger und/oder die Strukturen für die elektronische Schaltung erstreckt. Bei der Herstellung der Vorrichtung wird die Zwischenschicht vorzugsweise dadurch erzeugt, dass zunächst der Halbleiterchip mit dem wenigstens einen Strahlungsempfänger und gegebenenfalls den Strukturen für die elektronische Schaltung auf einem Wafer gefertigt wird, und dass danach ein den Werkstoff für die Zwischenschicht enthaltendes flüssiges Medium im Schleuderver-

fahren auf den Wafer aufgebracht wird. Nachdem sich das Medium durch die Fliehkraft gleichmäßig auf dem Wafer verteilt hat, wird es zu der Zwischenschicht verfestigt. Auf diese wird dann der Wellenleiter aufgebracht. Das Medium kann ein flüchtiges Lösungsmittel, wie z.B. Toluol, und ein Polymer, wie z.B. PMMA enthalten. Als flüssiges Medium kann aber auch Spin-On-Glas verwendet werden.

Bei einer vorteilhaften Ausführungsform der Erfindung ist die Zwischenschicht als Klebstoffschicht ausgebildet ist, vorzugsweise als Polymerschicht. Der Wellenleiter kann dann als Kunststoff-Spritzgussteil kostengünstig in großer Stückzahl hergestellt werden. Der Wellenleiter kann ein dünnes Kunststoff- oder Glasplättchen sein, das bei der Herstellung der Vorrichtung auf das Halbleitersubstrat aufgeklebt wird. Dabei kann der Wellenleiter auch die Funktion einer Schutzabdeckung für den Halbleiterchip erfüllen. Der Wellenleiter kann sich gegebenenfalls über den gesamten Halbleiterchip erstrecken.

Bei einer anderen Ausführungsform der Erfindung ist der Wellenleiter über wenigstens eine Bondstelle mit dem Halbleiterchip verbunden. Auch bei dieser Ausführungsform kann der Wellenleiter ein dünnes Kunststoffplättchen sein, das vorzugsweise eine Dicke von weniger als einem Millimeter aufweist.

Bei einer zweckmäßigen Ausgestaltung der Erfindung ist der Wellenleiter als Dünnschicht ausgebildet, die vorzugsweise aus einem transparenten Polymerwerkstoff besteht, insbesondere aus Polystyrol. Dabei ist der wenigstens eine Rezeptor vorzugsweise unmittelbar auf der Dünnschicht angeordnet. Der Wellenleiter kann aber auch aus einem anderen Werkstoff bestehen, beispielsweise aus Spin-On-Glas. Mit Hilfe der Dünnschichttechnik lässt sich der Wellenleiter mit einer Dicke von weniger als 100 Mikrometern herstellen. Auf den Strahlungsempfänger trifft dann ein entsprechend großer Anteil der von dem an den Rezeptor gebundenen Lumineszenzstoff abgegebenen Lumineszenzstrahlung auf. Für den Nachweis des Liganden in der Probe wird somit nur eine geringe Probenmenge benötigt. Bei der Herstellung der Vorrichtung kann der Wellenleiter durch Tauchbeschichten oder im Schleuderverfahren auf einfache Weise auf den Halbleiterchip aufgebracht werden.

Bei einer besonders vorteilhaften Ausführungsform der Erfindung ist der Wellenleiter durch eine Metalloxidschicht gebildet, insbesondere eine Siliziumdioxidschicht (SiO_2)

oder eine Tantalpentoxidschicht (Ta_2O_5). Der Wellenleiter lässt sich dann mit Hilfe von Standardprozessen der Halbleiterfertigung, wie z.B. durch Plasmaoxidation oder Chemical Vapour Deposition (CVD), kostengünstig herstellen. Dabei kann die Dicke des Wellenleiters weniger als 10 Mikrometer betragen, so dass nahezu die Hälfte

5 der von einem an der Oberfläche des Wellenleiters gebundenen Lumineszenzstoff emittierten Lumineszenzstrahlung auf den Strahlungsempfänger auftrifft. Es ergibt sich also eine entsprechend hohe Messempfindlichkeit, weshalb für die Untersuchung der Probe bereits kleinste Mengen Probenmaterial ausreichen. Die Oxidschicht kann eine Oberflächenstruktur haben, an welcher der wenigstens eine

10 Rezeptor unmittelbar anhafteten kann. Dadurch kann eine Haftvermittlerschicht zwischen dem Wellenleiter und dem wenigstens einen Rezeptor eingespart werden. Es ist aber auch möglich, dass der Wellenleiter als Silizium-Nitrid-Schicht (Si_3N_4) ausgebildet ist.

15 Besonders vorteilhaft ist, wenn die optische Strahlungsquelle als Halbleiterstrahlungsquelle ausgebildet und in den in den Halbleiterchip integriert ist. Die Vorrichtung ermöglicht dann einen noch kompakteren und kostengünstigeren Aufbau. Die Halbleiterstrahlungsquelle kann eine Laserdiode oder eine Leuchtdiode sein, welche die Anregungsstrahlung vorzugsweise in einem schmalbandigen Wellen-

20 längenbereich emittiert, in dem der wenigstens eine Strahlungsempfänger unempfindlich ist.

Bei einer bevorzugten Ausgestaltung der Erfindung ist zum Einkoppeln der Anregungsstrahlung in den Wellenleiter im Abstrahlbereich der optischen Strahlungs-

25 quelle eine Einkoppeloptik vorgesehen, die vorzugsweise einstückig mit dem Wellenleiter ausgebildet ist und insbesondere wenigstens ein Prisma, ein optisches Gitter und/oder einen Umlenkspiegel aufweist. Die Strahlungsquelle kann an der den Rezeptoren abgewandten Rückseite des Wellenleiters mit ihrer Abstrahlseite der Einkoppeloptik des Wellenleiters zugewandt angeordnet sein. An der Einkop-

30 peloptik wird dabei die von der Strahlungsquelle ausgesandte Anregungsstrahlung derart abgelenkt, dass sie unter einem Winkel in den Wellenleiter eintritt, der so gewählt ist, dass die Strahlung unter Ausnutzung der Totalreflexion in dem Wellenleiter geführt wird. Somit ergibt sich eine verlustarme Führung der Anregungsstrahlung von der Strahlungsquelle zu dem wenigstens einen Rezeptor.

Vorteilhaft ist, wenn mehrere Strahlungsempfänger vorzugsweise zeilen- oder matrixförmig nebeneinander in das Halbleitersubstrat integriert sind, wenn im Detektionsbereich der einzelnen Strahlungsempfänger jeweils mindestens ein, wenigstens einen Rezeptor aufweisendes Detektionsfeld angeordnet ist. Die Vorrichtung ermöglicht dann eine orts aufgelöste Detektion von an der Oberfläche des Wellenleiters befindlichen Rezeptor-Liganden-Komplexen. Dabei können die einzelnen Detektionsfelder unterschiedliche Rezeptoren aufweisen, so dass die Probe gleichzeitig auf das Vorhandensein mehrerer unterschiedlicher Liganden untersucht werden kann. Es ist aber auch denkbar, dass mindestens eine Gruppe von Detektionsfeldern die gleichen Rezeptoren aufweist. Die Messwerte der einzelnen Strahlungsempfänger der Gruppe können dann gemittelt, gefiltert und/oder zu Kontrollzwecken miteinander verglichen werden. Wenn mit Hilfe der Vorrichtung die Konzentration des Liganden in der Probe bestimmt werden soll, ist es vorteilhaft, wenn die Rezeptoren von wenigstens zwei Detektionsfeldern eine unterschiedliche Affinität zu dem Liganden aufweisen. Die Konzentration des Liganden kann dann in einem breiten Konzentrationsbereich gemessen werden, ohne dass die Probe für die Messung verdünnt oder aufkonzentriert werden muss. Der Wellenleiter kann sich unterbrechungsfrei über die Strahlungsempfänger erstrecken. Dadurch kann bei der Herstellung des Wellenleiters ein Maskierungsschritt eingespart werden.

Zweckmäßigerweise sind die Detektionsfelder derart voneinander beabstandet und relativ zu den Strahlungsempfängern positioniert, dass die einzelnen Strahlungsempfänger im Wesentlichen keine Lumineszenzstrahlung von einem Detektionsfeld eines anderen Strahlungsempfängers empfangen. Somit wird eine hohe Übersprechdämpfung zwischen den aus den einzelnen Detektionsfeldern und den diesen jeweils zugeordneten Strahlungsempfängern bestehenden Messanordnungen erreicht.

Bei einer vorteilhaften Ausführungsform der Erfindung ist der wenigstens eine Rezeptor in der Innenhöhlung einer Durchflussmesskammer angeordnet, die zumindest eine Einlass- und eine Auslassöffnung aufweist, wobei das Halbleitersubstrat vorzugsweise einen Wandungsbereich der Durchflussmesskammer bildet. In der Durchflussmesskammer können dann Biomoleküle oder Biokomponenten untersucht und über die Ein- und Auslassöffnung mit einer Nährlüssigkeit versorgt werden. Das Biomolekül kann Nukleinsäuren oder Derivate davon (DNA, RNA, PNA,

LNA, Oligonukleotide, Plasmide, Chromosomen), Peptide, Proteine (Enzym, Protein, Oligopeptide, zelluläre Rezeptorproteine und deren Komplexe, Peptidhormone, Antikörper und deren Fragmente), Kohlenhydrate und deren Derivate, insbesondere glykosylierte Proteine und Glycoside, Fette, Fettsäuren und/oder Lipide umfassen.

5

Zum Temperieren der Durchflussmesskammer kann eine Heiz- und/oder Kühlvorrichtung vorgesehen sein, die vorzugsweise ein Peltier-Element aufweist. Die Heizvorrichtung ist vorzugsweise als Dünnschichtheizung ausgebildet. Die Vorrichtung kann dann mehrfach verwendet werden, indem nach Durchführung einer Mes-

10 sung die Temperatur in der Durchflussmesskammer soweit erhöht wird, dass sich sämtliche an die Rezeptoren gebundenen Liganden von den Rezeptoren ablösen. Die Liganden können dann durch Zuführen eines Spülmediums über die Auslassöffnung aus der Durchflussmesskammer herausgespült werden. Dabei wird der Spülvorgang solange aufrechterhalten, bis die Strahlungsempfänger keine Lumi-

15 neszenzstrahlung mehr detektieren. Danach kann über die Einlassöffnung eine neue Probe in die Durchflussmesskammer eingebracht und untersucht werden. Die Vorrichtung kann aber auch zur Bestimmung des Schmelzpunktes und/oder der Bindungskonstanten eines Liganden, wie z.B. einer DNA-Sequenz, verwendet werden. Dabei wird die Anbindung des Liganden an die Rezeptoren als Funktion

20 der Temperatur und/oder der Zeit gemessen. Aus der so erhaltenen Schmelzkurve kann der Schmelzpunkt der DNA-Sequenz, also die Temperatur, bei der die Hälfte einer ursprünglich doppelsträngigen DNA-Sequenz einzelsträngig vorliegt, ermittelt werden. Anhand des Schmelzpunktes können Mutationen in DNA-Sequenzen, die beispielsweise bei Erbkrankheiten auftreten können, erkannt werden.

25

Bei einer zweckmäßigen Ausgestaltung der Erfindung ist in der Durchflussmesskammer wenigstens ein Reagenz und/oder Reaktionspartner zum Nachweisen der Bindung des wenigstens einen Liganden an den mindestens einen Rezeptor deponiert. Die Durchflussmesskammer ist dann fertig für die Verwendung, d.h. für

30 die Messung braucht nur noch die zu untersuchende Probe über die Einlassöffnung in die Messkammer eingefüllt zu werden. Das Reagenz und/oder der Reaktionspartner ist vorzugsweise lyophilisiert und kann beispielsweise auf die Innenwand der Messkammer aufgedruckt sein. Vorzugsweise ist dabei ein stabilisierendes Agens, wie. z.B. Trehalose, Poly (2-hydroxyethyl) methacrylat (pHEMA) oder bovines

35 Serum Albumin (BSA), vorgesehen.

Nachfolgend sind Ausführungsbeispiele der Erfindung anhand der Zeichnung näher erläutert. Es zeigen zum Teil stärker schematisiert:

Fig. 1 einen Querschnitt durch eine Vorrichtung zur Detektion von in einer zu untersuchenden Probe enthaltenen Liganden, mit einer Durchflussmesskammer,

Fig. 2 und 7 einen Querschnitt durch einen optischen Wellenleiter aufweisenden Wandungsbereich der Durchflussmesskammer, wobei auf dem Wellenleiter Rezeptoren immobilisiert sind, an die Liganden gebunden sind, die indirekt mit einem Lumineszenzstoff markiert sind,

Fig. 3 eine Darstellung ähnlich Fig. 2, wobei der Lumineszenzstoff mit Hilfe von Anregungs-Strahlung zur Abgabe von Lumineszenz-Strahlung angeregt wird und wobei die Anregungs- und die Lumineszenz-Strahlung schematisch in Form von Strahlen dargestellt sind,

Fig. 5 eine Aufsicht auf einen Teilbereich eines Halbleiterchips,

Fig. 6 einen Querschnitt durch einen Teilbereich des Halbleiterchip und den darauf angeordneten Wellenleiter, und

Fig. 7 eine Darstellung ähnlich Fig. 6, wobei jedoch zwischen dem Wellenleiter und dem Halbleiterchip eine Zwischenschicht angeordnet ist.

Eine im Ganzen mit 1 bezeichnete Vorrichtung zur Detektion mindestens eines in einer zu untersuchenden, im wesentlichen flüssigen Probe enthaltenen Liganden 2 weist einen Halbleiterchip 3 auf, der mit Methoden der Halbleitertechnik mit einem optischen Wellenleiter 4 integriert ist (Fig. 1). Der Wellenleiter kann beispielsweise aus einem Polymerwerkstoff bestehen.

In Fig. 2 ist erkennbar, dass an der Oberfläche des Wellenleiters 4 Rezeptoren 5 immobilisiert, die beim Kontaktieren des Liganden 2 an diesen binden. Die Immobilisierung der Rezeptoren 5 kann beispielsweise durch eine Silanisierung oder eine auf dem Wellenleiter 4 angeordnete Polyimidschicht erreicht werden, an welcher

die Rezeptoren 5 anhaften. Die Rezeptoren 5 können auf den Wellenleiter 4 bzw. die darauf befindliche Polyimidschicht aufgedruckt sein. Bei dem Ausführungsbeispiel nach Fig. 2 sind die Rezeptoren 5 Antikörper gegen ein bestimmtes Epitop des Liganden 2. Nach Bindung des Epitops an den Rezeptor 5 wird der so gebildete, aus dem Epitop und dem Rezeptor 5 bestehende Antikörperkomplex mittels eines zweiten, an das erste Epitop bindenden Antikörpers 6 markiert. Dieser Antikörper 6 ist direkt oder indirekt mit einem Lumineszenzstoff 7 markiert.

In Fig. 1 ist erkennbar, dass in den Halbleiterchip 3 eine optische Halbleiter-Strahlungsquelle 8, wie zum Beispiel eine Laser- oder Leuchtdiode, integriert ist. Das Spektrum der von der Strahlungsquelle 8 emittierten Strahlung 9 weist mindestens eine Anregungswellenlänge auf, bei welcher der Lumineszenzstoff 7 zur Abgabe von Lumineszenzstrahlung 10 angeregt wird. Zum Einkoppeln der Anregungsstrahlung 9 in den Wellenleiter 4 ist im Abstrahlbereich der Strahlungsquelle 8 eine Einkoppeloptik 11 vorgesehen ist, die in der Zeichnung nicht näher dargestellte Mikroprismen aufweist, welche die von der Strahlungsquelle 8 ausgesandte Anregungsstrahlung derart umlenken, dass sie unter Ausnutzung der Totalreflexion in dem Wellenleiter 4 geführt ist. Durch die Totalreflexion an der Grenzfläche des Wellenleiters 4 wird in dem optisch dünneren Medium, nämlich der Probe, ein elektromagnetisches Evaneszenzfeld erzeugt, wodurch die an der Oberfläche des Wellenleiters 4 gebundenen Lumineszenzstoffe 7 zur Abgabe der Lumineszenzstrahlung 10 angeregt werden. Da das Evaneszenzfeld nur einige hundert Nanometer tief in die Probe eindringt, werden nahezu ausschließlich die an der Oberfläche des Wellenleiters gebundenen Lumineszenzstoffe 7 zur Abgabe der Lumineszenzstrahlung 10 angeregt, während in der Probe enthaltene ungebundene Lumineszenzstoffe 7 praktisch nicht zu der Lumineszenzstrahlung beitragen.

Zur Detektion der Lumineszenzstrahlung 10 sind mehrere, jeweils als Halbleiterbauelemente ausgebildete optische Strahlungsempfänger 12 in den Halbleiterchip 3 integriert. Die Strahlungsempfänger 12 sind an der den Rezeptoren 5 abgewandten Rückseite des für die Lumineszenzstrahlung 10 durchlässigen Wellenleiters 4 angeordnet. Die Lumineszenzstrahlung 10 trifft also ohne Zwischenschaltung einer Abbildungsoptik direkt auf die Strahlungsempfänger 12 auf. Die Vorrichtung weist dadurch einen kompakten und kostengünstigen Aufbau auf.

Bei dem Lumineszenzstoff 7 handelt es sich um einen aufwärtskonvertierenden Lumineszenzstoff. Derartige Lumineszenzstoffe sind aus EP 0 723 146 A1 bekannt. Als Beispiele für aufwärtskonvertierende Lumineszenzstoffe seien die Farbstoff BND der Dyomics GmbH, Jena und IR-140 erwähnt. Anders als abwärtskonvertierende Lumineszenzstoffe beziehen aufwärtskonvertierende Lumineszenzstoffe die für die Quantenemission benötigte Energie nicht aus einem einzigen sondern aus mehreren Quanteneffekten. Abwärtskonvertierende Lumineszenzstoffe weisen daher im Vergleich zu abwärtskonvertierenden Lumineszenzstoffen eine wesentlich größere Stokes-Verschiebung auf, bei welcher die Wellenlänge der Anregungsstrahlung beispielsweise etwa doppelt so groß sein kann wie die Wellenlänge der Lumineszenz-Strahlung. Dadurch ist es möglich, als Strahlungsquelle eine Infrarot-Halbleiter-Strahlungsquelle 8 vorzusehen, die bei kompakten Abmessungen eine hohe Strahlungsintensität ermöglicht. Das Infrarotlicht derartiger Halbleiter-Strahlungsquellen 8 hat außerdem den Vorteil, dass gegenüber kurzwelligerer optischer Strahlung weniger Streueffekte auftreten. Mit Hilfe des aufwärtskonvertierenden Lumineszenzstoffs 7 kann die von der Strahlungsquelle 8 abgegebene optische Strahlung in sichtbares Licht oder in nahes Infrarot-Licht konvertiert werden, für das die Strahlungsempfänger 12 eine hohe Detektionsempfindlichkeit aufweisen. Für die Anregungsstrahlung 9 sind die Strahlungsempfänger 12 unempfindlich.

In Fig. 2 und 3 ist erkennbar, dass sich der Wellenleiter 4 bis über die Strahlungsempfänger 12 erstreckt und dass die Rezeptoren 5 dem Strahlungsempfänger 12 direkt gegenüberliegend an der Oberfläche des Wellenleiters 4 angeordnet sind. Somit kann die Lumineszenzstrahlung 10 auf direktem Wege von dem Lumineszenzstoff 7 zu den Strahlungsempfängern 12 gelangen.

Bei dem in Fig. 4 und 5 gezeigten Ausführungsbeispiel grenzt der Wellenleiter 4 direkt an den Halbleiterchip 3 an. Der Wellenleiter 4 weist Unterbrechungen auf, in denen Strukturen 13 für eine elektronische Schaltung angeordnet sind. Diese weist Leiterbahnen auf, die mit den Strahlungsempfängern 12 verbunden sind. Die Topographie des Halbleiterchips in dem an den Wellenleiter 4 angrenzenden Halbleiterchip-Bereich derart ausgebildet ist, dass die den Rezeptoren 5 gegenüberliegende Grenzfläche 14 zwischen dem Halbleiterchip 3 und dem Wellenleiter 4 zwischen zwei gedachten, jeweils parallel zur Erstreckungsebene des Halbleiterchips 3 angeordneten Ebenen 14a, 14b verläuft, deren Abstand x kleiner ist als ein Achtel der Wellenlänge der Anregungsstrahlung 9. Dadurch wird eine unerwünsch-

te Lichtauskopplung aus dem Wellenleiter 4 an der Grenzfläche 14 weitestgehend vermieden. Strukturen, die eine von einer Ebene abweichende Oberflächen-Topographie des Halbleiterchips 3 erfordern, wie zum Beispiel Leiterbahnen aus Aluminium, sind im Wesentlichen seitlich neben dem Wellenleiter 4 angeordnet. Bei dem Ausführungsbeispiel nach Fig. 5 ist der Wellenleiter 4 durch eine Halbmetalloxid-Schicht gebildet, die sich in einem oberflächennahen Bereich flächig auf einem Halbleitersubstrat 3 des Halbleiterchips 3 erstreckt und etwa parallel zur Erstreckungsebene des Halbleitersubstrats verläuft. Das Halbleitersubstrat kann beispielsweise aus Silizium bestehen.

Bei dem Ausführungsbeispiel nach Fig. 6 ist zwischen dem Halbleiterchip 3 und dem Wellenleiter 4 eine Zwischenschicht 15 angeordnet ist, die etwa parallel zur Erstreckungsebene des Halbleiterchips 3 verläuft und deren optischer Brechungsindex kleiner ist als derjenige des Wellenleiters 4. Die Zwischenschicht 15 grenzt direkt den Halbleiterchip 3 an und weist eine Negativform des Halbleiterchips 3 auf. Dies kann beispielsweise dadurch erreicht werden, dass der Werkstoff für die Zwischenschicht 15 bei der Herstellung der Vorrichtung 1 in verflüssigter Form im Schleuderverfahren auf den Halbleiterchip 3 aufgetragen und - nachdem er sich gleichmäßig über die Oberfläche des Halbleiterchips 3 verteilt hat - verfestigt wird. An ihrer dem Halbleiterchip 3 abgewandten Seite ist die Zwischenschicht 15 eben ausgebildet. Auf die Zwischenschicht 15 ist als weitere Schicht der Wellenleiter 4 aufgebracht. Es ergibt sich also eine ebene Grenzfläche zwischen der Zwischenschicht 15 und dem Wellenleiter 4, die eine weitestgehend verlustfreie Führung der Anregungsstrahlung 9 in dem Wellenleiter 4 ermöglicht. Dabei kann sich der Wellenleiter 4 durchgängig über den Halbleiterchip 3 erstrecken.

In Fig. 1 ist erkennbar, dass die Strahlungsempfänger 12 über Leiterbahnen mit einer in den Halbleiterchip 3 integrierten Ansteuerungs- und Auswerteeinrichtung 17 verbunden sind. Die Auswerteeinrichtung 17 hat eine in der Zeichnung schematisch dargestellte Schnittstelleneinrichtung zum Verbinden mit einer übergeordneten Anzeige- und/oder Auswerteeinheit, beispielsweise einem Mikrocomputer.

In Fig. 7 ist erkennbar, dass mehrere Strahlungsempfänger 12 matrixförmig nebeneinander in das Halbleitersubstrat integriert sind. Im Detektionsbereich der einzelnen Strahlungsempfänger 12 ist jeweils ein Detektionsfeld mit mehreren Rezeptoren

5 angeordnet. Die einzelnen Detektionsfelder haben unterschiedliche Rezeptoren 5, die jeweils mit einem bestimmten Liganden 2 eine Bindung eingehen können.

In Fig. 2 bis 4 sind die Rezeptoren gegenüber den Strahlungsempfängern 12 vergrößert dargestellt. Die Abstände zwischen zueinander benachbarten Detektionsfeldern einerseits und die Abstände zwischen den an die Rezeptoren 5 gebundenen Lumineszenzstoffen 7 und den ihnen jeweils zugeordneten Strahlungsempfängern 12 andererseits sind so gewählt, dass die einzelnen Strahlungsempfänger 12 im Wesentlichen keine Lumineszenzstrahlung von einem Detektionsfeld eines benachbarten Strahlungsempfängers empfangen können.

In Fig. 1 ist erkennbar, dass der Halbleiterchip 3 einen Wandungsbereich einer Durchflussmesskammer bildet, in deren Innenhöhlung 17 die Rezeptoren 5 angeordnet sind. Die Durchflussmesskammer hat eine Einlassöffnung 19 und eine Auslassöffnung 19. Die Einlassöffnung 19 ist mit einer in der Zeichnung nicht näher dargestellten Zuleitung für die Probe und die Auslassöffnung 19 mit einer Ableitung verbunden.

Erwähnt werden soll noch, dass die Strahlungsquelle 8 zum Modulieren der Anregungsstrahlung 9 mit einer Modulationseinrichtung 20 verbunden ist, die in den Halbleiterchip 3 integriert ist. Mit Hilfe der Modulationseinrichtung 20 kann die Anregungsstrahlung 9 beispielsweise getaktet ein- und ausgeschaltet werden, um in den Messsignalen der Strahlungsempfänger 12 eventuell enthaltene, durch Streulicht oder unspezifische optische Anregung verursachte Signalanteile bei der Signalauswertung berücksichtigen zu können. Die Modulationseinrichtung 20 ist zu diesem Zweck über eine Verbindungsleitung mit der Auswerteeinrichtung 16 verbunden.

Die Vorrichtung 1 zur Detektion mindestens eines in einer zu untersuchenden Probe enthaltenen Liganden 2 weist also einen optischen Wellenleiter 4 auf, an dessen Oberfläche wenigstens ein für den Liganden 2 spezifischer Rezeptor 5 direkt oder indirekt immobilisiert ist. Der Ligand 2 bindet beim Kontaktieren des Rezeptors 5 an diesen. Die Vorrichtung 1 hat mindestens eine optische Strahlungsquelle 8 zur Einkoppelung von Anregungsstrahlung 9 in den Wellenleiter 4. Die Strahlung 9 dient zur Anregung der Emission von Lumineszenzstrahlung 10 in Abhängigkeit von der Bindung des Liganden 2 an den Rezeptor 5. Zur Detektion der Lumines-

zenzstrahlung 10 ist in das Halbleitersubstrat eines Halbleiterchips 3 mindestens ein Strahlungsempfänger 12 integriert. Der Wellenleiter 4 ist monolithisch mit dem Halbleitersubstrat integriert oder als Wellenleiterschicht auf dieses aufgebracht.

Patentansprüche

1. Vorrichtung (1) zur Detektion mindestens eines in einer zu untersuchenden Probe enthaltenen Liganden (2), mit einem optischen Wellenleiter (4), an dessen Oberfläche wenigstens ein Rezeptor (5) direkt oder indirekt immobilisiert ist, der beim Kontaktieren des Liganden (2) eine spezifische Bindung mit dem Liganden (2) eingeht, mit mindestens einer optischen Strahlungsquelle (8) zur Einkoppelung von Anregungsstrahlung (9) in den Wellenleiter (4), zur Anregung der Emission von Lumineszenzstrahlung (10) in Abhängigkeit von der Bindung des Liganden (2) an den Rezeptor (5), und mit einem Halbleiterchip (3), der wenigstens einen auf einem Halbleitersubstrat angeordneten Strahlungsempfänger (12) zur Detektion der Lumineszenzstrahlung (10) aufweist, **dadurch gekennzeichnet**, dass der Wellenleiter (4) monolithisch mit dem Halbleitersubstrat integriert ist oder als Wellenleiterschicht auf dem Halbleiterchip (3) angeordnet ist.
2. Vorrichtung (1) nach Anspruch 1, dadurch gekennzeichnet, dass sich der Wellenleiter (4) bis über den wenigstens einen Strahlungsempfänger (12) erstreckt und dass der wenigstens eine Rezeptor (5) vorzugsweise dem Strahlungsempfänger (12) direkt gegenüberliegend an der Oberfläche des Wellenleiters (4) angeordnet ist.
3. Vorrichtung (1) nach Anspruch 1 oder 2, dadurch gekennzeichnet, dass die Wellenleiterschicht direkt an den Halbleiterchip (3) angrenzt, dass die Topographie des Halbleiterchips (3) in dem an den Wellenleiter (4) angrenzenden Halbleiterchip-Bereich derart ausgebildet ist, dass die dem wenigstens einen Rezeptor (5) gegenüberliegende Grenzfläche (14) zwischen dem Halbleiterchip (3) und dem Wellenleiter (4) zwischen zwei parallel zur Erstreckungsebene des Halbleiterchips (3) angeordneten Ebenen (14a, 14b) verläuft, deren Abstand (x) kleiner ist als die Wellenlänge der Anregungsstrahlung (9), insbesondere kleiner als die Hälfte, vorzugsweise ein Viertel und gegebenenfalls ein Achtel der Wellenlänge der Anregungsstrahlung (9).
4. Vorrichtung (1) nach einem der Ansprüche 1 bis 3, dadurch gekennzeichnet, dass der Halbleiterchip (3) seitlich neben dem Wellenleiter (4) Strukturen (13) für eine elektronische Schaltung aufweist.

5. Vorrichtung (1) nach einem der Ansprüche 1 bis 4, dadurch gekennzeichnet, dass zwischen dem Halbleiterchip (3) und dem Wellenleiter (4) eine Zwischenschicht (15) angeordnet ist, deren optischer Brechungsindex kleiner ist als derjenige des Wellenleiters (4), dass die Zwischenschicht (15) eine Negativform des Halbleiterchips (3) aufweist, mit der sie direkt an den Halbleiterchip (3) angrenzt, und dass die dem Halbleiterchip (3) abgewandte, direkt an den Wellenleiter (4) angrenzende Vorderseite der Zwischenschicht (15) im Wesentlichen eben ausgebildet ist.
6. Vorrichtung (1) nach einem der Ansprüche 1 bis 5, dadurch gekennzeichnet, dass die Zwischenschicht als Klebstoffschicht ausgebildet ist, vorzugsweise als Polymerschicht.
7. Vorrichtung (1) nach einem der Ansprüche 1 bis 6, dadurch gekennzeichnet, dass der Wellenleiter (4) über wenigstens eine Bondstelle mit dem Halbleiterchip (3) verbunden ist.
8. Vorrichtung (1) nach einem der Ansprüche 1 bis 7, dadurch gekennzeichnet, dass der Wellenleiter (4) als Dünnschicht ausgebildet ist, die vorzugsweise aus einem transparenten Polymerwerkstoff besteht, insbesondere aus Polystyrol.
9. Vorrichtung (1) nach einem der Ansprüche 1 bis 8, dadurch gekennzeichnet, dass der Wellenleiter (4) durch eine Metalloxidschicht gebildet ist, insbesondere eine Siliziumdioxidschicht oder eine Tantalpentoxidschicht.
10. Vorrichtung (1) nach einem der Ansprüche 1 bis 9, dadurch gekennzeichnet, dass die optische Strahlungsquelle (8) als Halbleiterstrahlungsquelle ausgebildet und in den Halbleiterchip (3) integriert ist.
11. Vorrichtung (1) nach einem der Ansprüche 1 bis 10, dadurch gekennzeichnet, dass zum Einkoppeln der Anregungsstrahlung (9) in den Wellenleiter (4) im Abstrahlbereich der optischen Strahlungsquelle (8) eine Einkoppeloptik (11) vorgesehen ist, die vorzugsweise einstückig mit dem Wellenleiter (4)

ausgebildet ist und insbesondere wenigstens ein Prisma, ein optisches Gitter und/oder einen Umlenkspiegel aufweist.

- 5 12. Vorrichtung (1) nach einem der Ansprüche 1 bis 11, dadurch gekennzeichnet, dass mehrere Strahlungsempfänger (12) vorzugsweise zeilen- oder matrixförmig nebeneinander in das Halbleitersubstrat integriert sind, dass im Detektionsbereich der einzelnen Strahlungsempfänger (12) jeweils mindestens ein, wenigstens einen Rezeptor (5) aufweisendes Detektionsfeld angeordnet ist.
- 10 13. Vorrichtung (1) nach einem der Ansprüche 1 bis 12, dadurch gekennzeichnet, dass die Detektionsfelder derart voneinander beabstandet und relativ zu den Strahlungsempfängern (12) positioniert sind, dass die einzelnen Strahlungsempfänger (12) im Wesentlichen keine Lumineszenzstrahlung von einem Detektionsfeld eines anderen Strahlungsempfängers (12) empfangen.
- 15 14. Vorrichtung (1) nach einem der Ansprüche 1 bis 13, dadurch gekennzeichnet, dass der wenigstens eine Rezeptor (5) in der Innenhöhlung (17) einer Durchflussmesskammer angeordnet ist, die zumindest eine Einlassöffnung (19) und eine Auslassöffnung (19) aufweist, und dass der Halbleiterchip (3) vorzugsweise einen Wandungsbereich der Durchflussmesskammer bildet.
- 20 15. Vorrichtung (1) nach einem der Ansprüche 1 bis 14, dadurch gekennzeichnet, dass zum Temperieren der Durchflussmesskammer eine Heiz- und/oder Kühlvorrichtung vorgesehen ist, die vorzugsweise ein Peltier-Element aufweist.
- 25 16. Vorrichtung (1) nach einem der Ansprüche 1 bis 15, dadurch gekennzeichnet, dass in der Durchflussmesskammer wenigstens ein Reagenz und/oder Reaktionspartner zum Nachweisen der Bindung des wenigstens einen Liganden (2) an den mindestens einen Rezeptor (5) deponiert ist.
- 30

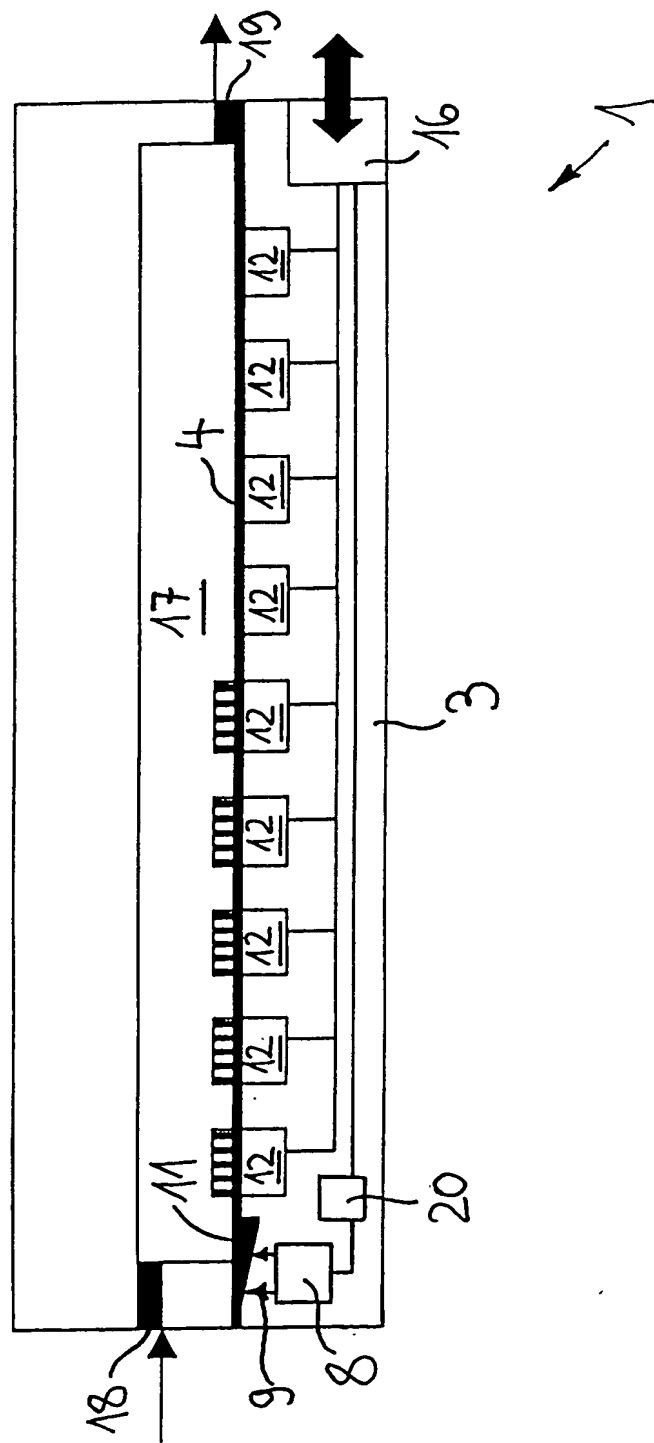


Fig. 1

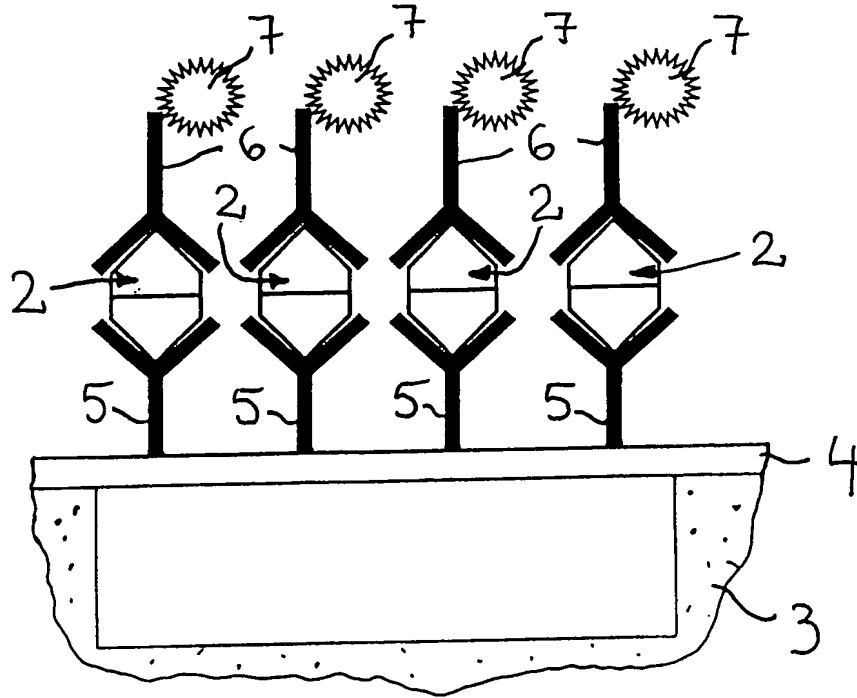


Fig. 2

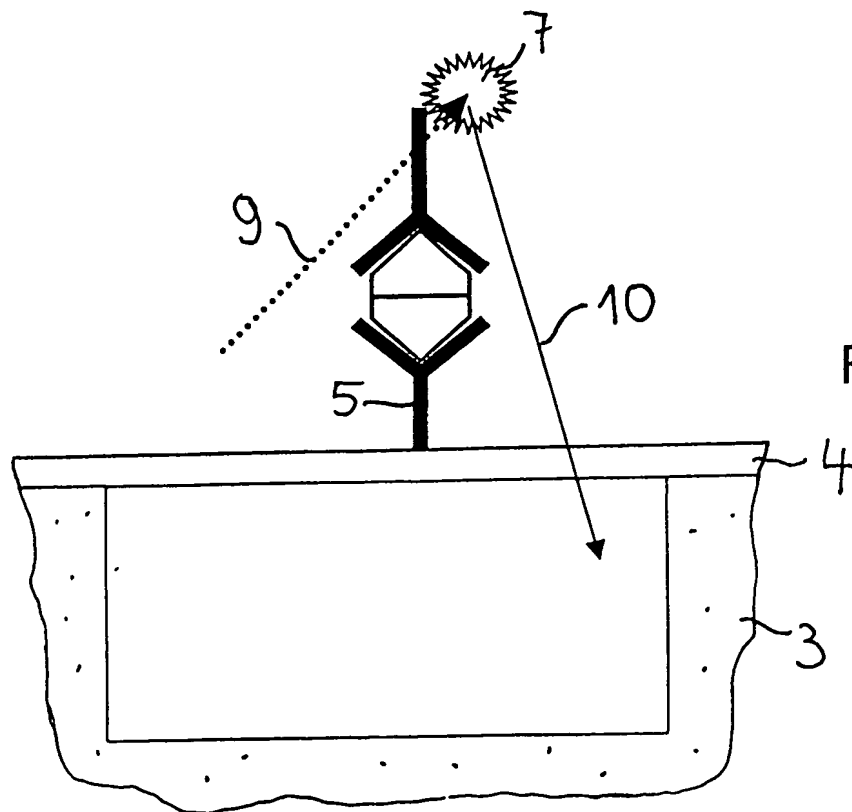


Fig. 3

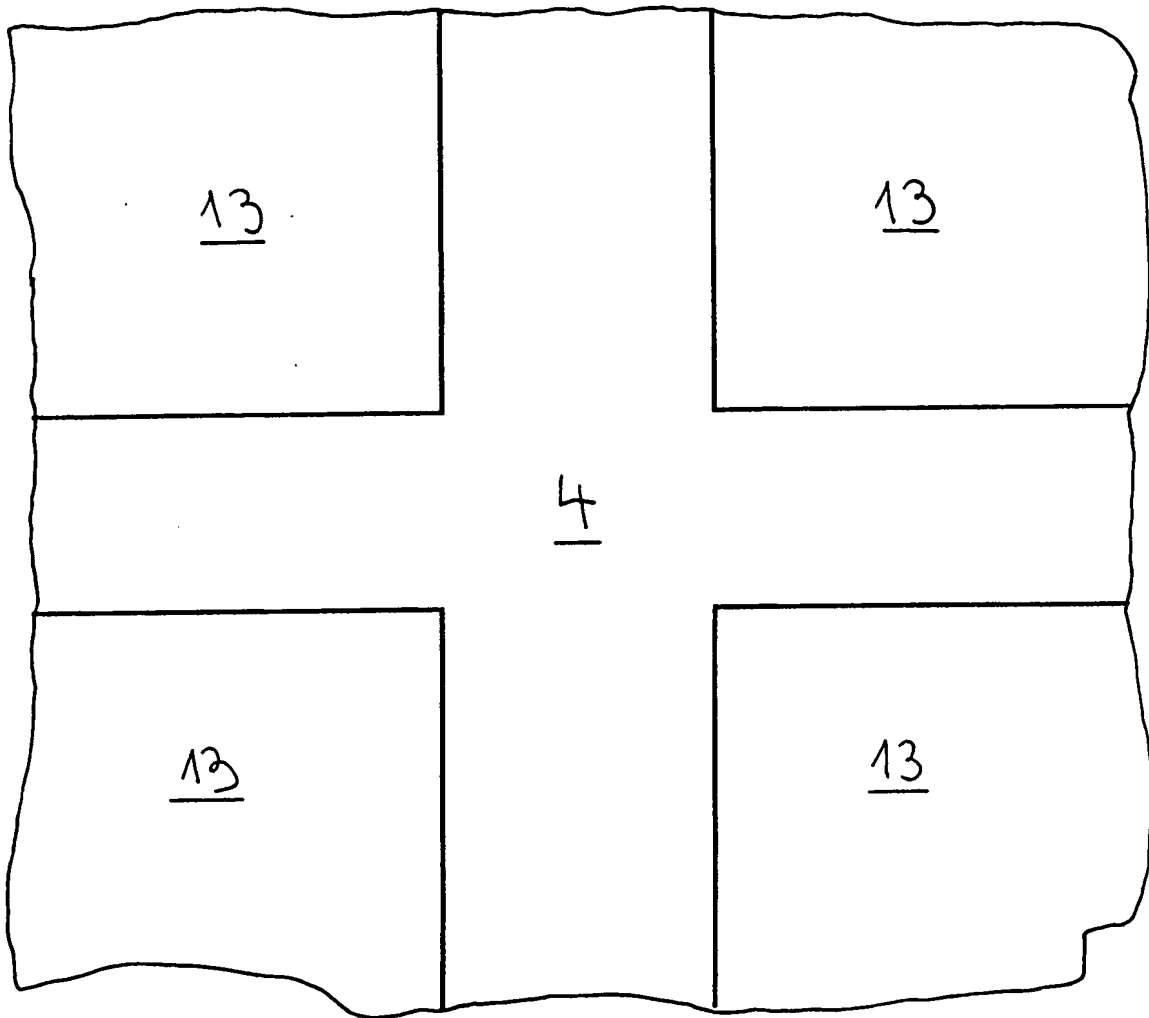


Fig. 4

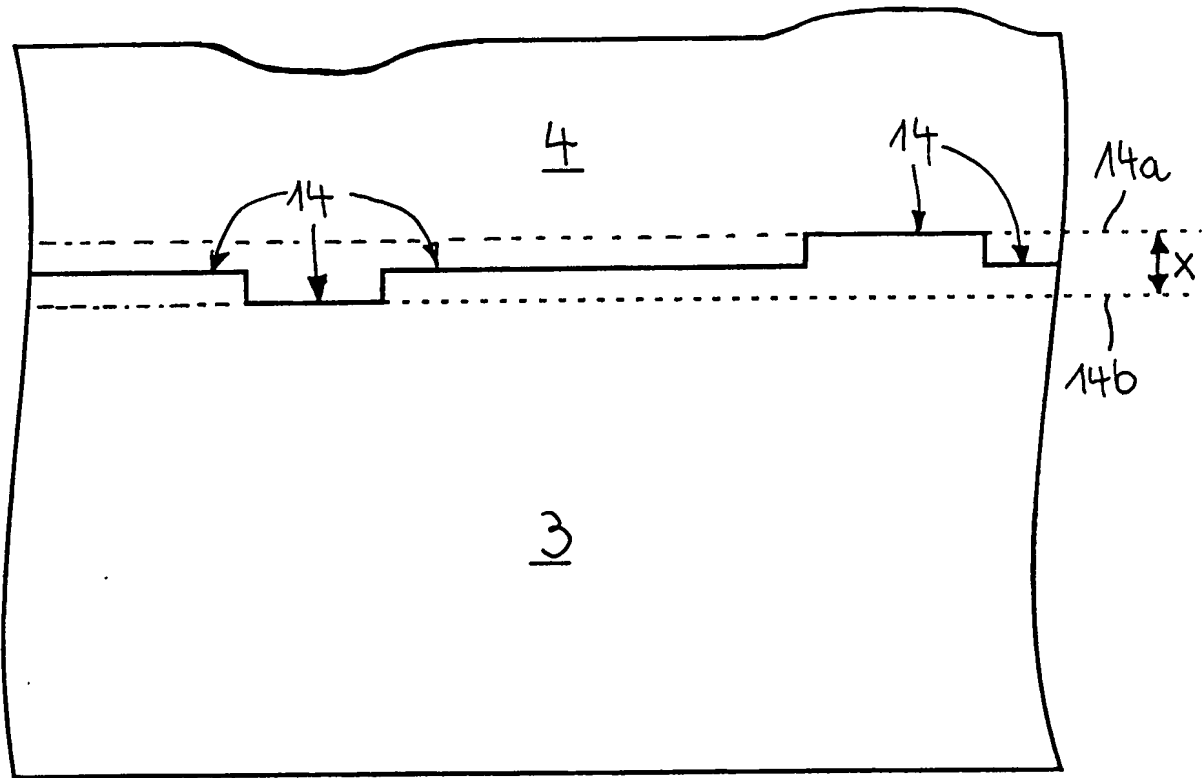


Fig. 5

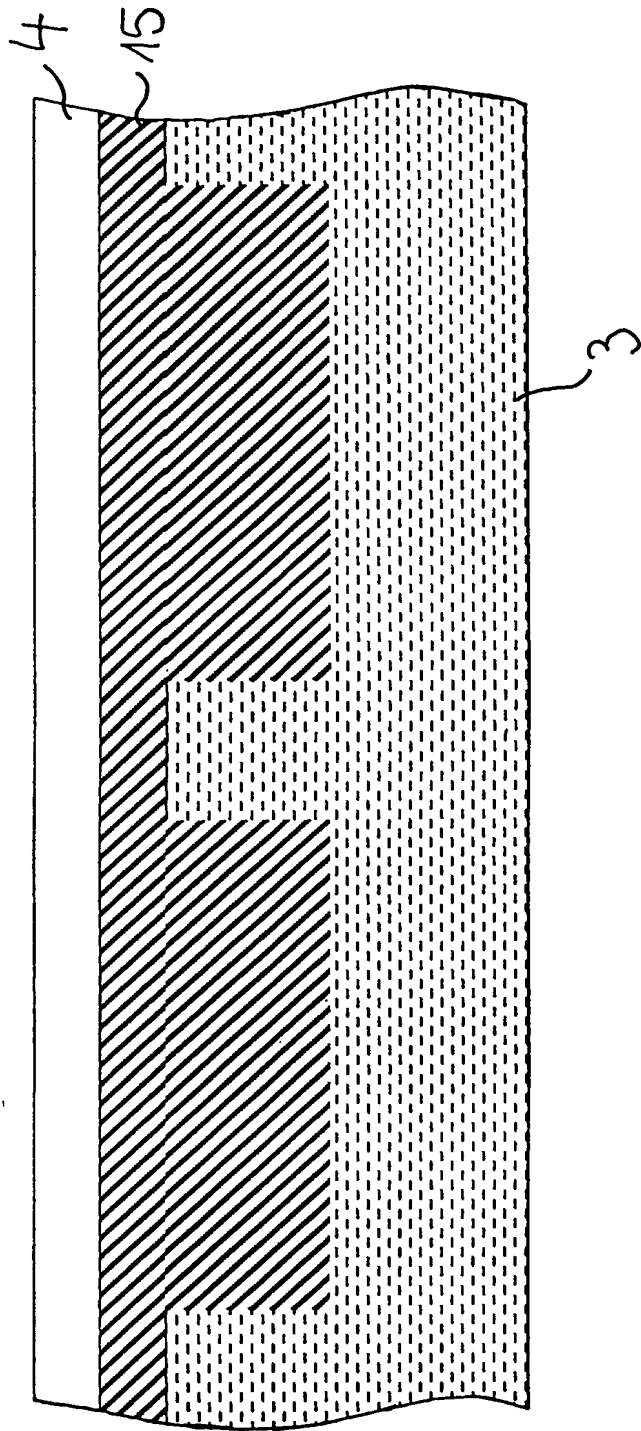


Fig. 6

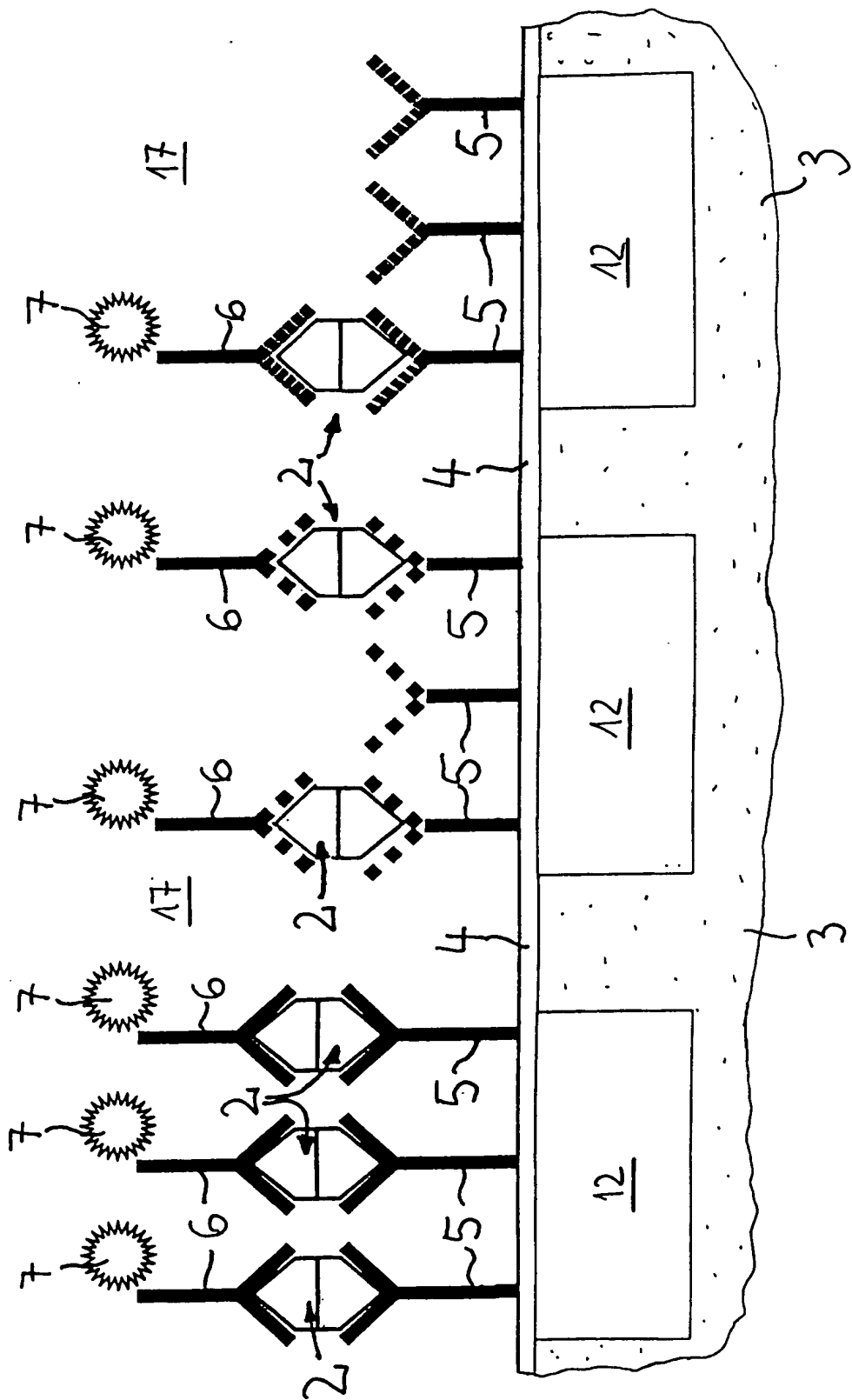


Fig. 7

**This Page is Inserted by IFW Indexing and Scanning
Operations and is not part of the Official Record**

BEST AVAILABLE IMAGES

Defective images within this document are accurate representations of the original documents submitted by the applicant.

Defects in the images include but are not limited to the items checked:

- ☒ BLACK BORDERS
- ☐ IMAGE CUT OFF AT TOP, BOTTOM OR SIDES
- ☐ FADED TEXT OR DRAWING
- ☐ BLURRED OR ILLEGIBLE TEXT OR DRAWING
- ☐ SKEWED/SLANTED IMAGES
- ☐ COLOR OR BLACK AND WHITE PHOTOGRAPHS
- ☐ GRAY SCALE DOCUMENTS
- ☐ LINES OR MARKS ON ORIGINAL DOCUMENT
- ☐ REFERENCE(S) OR EXHIBIT(S) SUBMITTED ARE POOR QUALITY
- ☐ OTHER: _____

IMAGES ARE BEST AVAILABLE COPY.

As rescanning these documents will not correct the image problems checked, please do not report these problems to the IFW Image Problem Mailbox.